

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2021-2-19-23>

Влияние парааминобензойной кислоты на воспалительный процесс при синдроме «сухого глаза» у больных сахарным диабетом (клинико-лабораторное исследование)

А.А. Рябцева¹, Г.Х. Али-заде¹, С.И. Акберова², О.В. Москалец¹, А.С. Андриякина¹¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт (МНИКИ) им. М.Ф. Владимирского», Москва²Медицинский центр «Медквадрат», Москва

РЕФЕРАТ

Цель. Изучение влияния 0,007%-го раствора парааминобензойной кислоты (ПАБК) в форме лекарственного препарата актипол-М на воспалительный процесс на основании оценки уровня sIL-6R и НЭ в слезной жидкости (СЖ), у больных сахарным диабетом (СД) при синдроме «сухого глаза» (ССГ).

Материал и методы. Обследовано 30 пациентов (60 глаз) с СД 1-го и 2-го типов в возрасте от 35 до 70 лет с диагнозом ССГ. Пациенты получали актипол-М капли глазные в течение одного месяца. В СЖ определяли содержание нейтрофильной эластазы – НЭ (10 пациентов, 20 глаз) и sIL-6R (20 пациентов, 40 глаз). Контрольную группу составили практически здоровые добровольцы – 10 человек (20 глаз). Количественное определение содержания

sIL-6R и НЭ проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. У пациентов выявлено более высокое содержание sIL-6R ($10974,8 \pm 1228,5$ пкг/мл) и НЭ ($3,85 \pm 0,13$ нг/мл) по сравнению с контрольной группой ($4,6 \pm 0,7$ пкг/мл и $0,22 \pm 0,08$ нг/мл соответственно). Через 1 мес. после начала лечения достоверное снижение данных показателей наблюдалось у всех пациентов в обоих глазах: в среднем на 80,5% – sIL-6R и на 58,7% – НЭ.

Заключение. ПАБК 0,007%-й в лекарственной форме капли глазные актипол-М оказывает противовоспалительное действие, подавляя продукцию sIL-6R и НЭ в СЖ при ССГ у больных с СД.

Ключевые слова: парааминобензойная кислота, синдром сухого глаза, сахарный диабет, воспаление, нейтрофильная эластаза, растворимый рецептор к интерлейкину-6. ■

Точка зрения. Восток – Запад. 2021;2:19–23.

ABSTRACT

The influence of para-aminobenzoic acid on the inflammatory process in dry eye disease in patients with diabetes mellitus (clinical and laboratory research)

А.А. Ryabtseva¹, G.Kh. Ali-Zade¹, S.I. Akberova², O.V. Moskalets¹, A.S. Andryukhina¹¹Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI) n.o. M.F. Vladimirovsky, Moscow²Medical center «Medkvadrat», Moscow

Purpose. Study of the effect of 0.007% PABA solution in the form of the drug Aktipol-M on the inflammatory process based on the assessment of the level of sIL-6R and NE in the lacrimal fluid (LF), with dry eye disease (DED) in patients with diabetes mellitus (DM).

Material and methods. The study involved 30 patients (60 eyes) with type 1 and 2 diabetes, aged 35 to 70 years, with a diagnosis of DED. Patients received Aktipol-M eye drops for one month. The contents of NE (10 patients, 20 eyes) and sIL-6R (20 patients, 40 eyes) were determined in the LF. The control group consisted of 10 healthy volunteers (20 eyes). Quantitative determination of the content of sIL-6R and NE was carried out by the method of enzyme-linked immunosorbent assay. Thirty patients (60 eyes) with type 1 and 2 diabetes, aged 35 to 70 years, with a diagnosis of DED were examined. The patients received Aktipol-M eye drops for one month. The content of NE (10 patients, 20 eyes) and sIL-6R (20 patients, 40 eyes) was determined in the LF. The control group consisted

of 10 healthy volunteers (20 eyes). The quantitative determination of the content of sIL-6R and NE was carried out by the method of enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. The patients showed a higher content of sIL-6R (10974.8 ± 1228.5 pkg/ml) and NE (3.85 ± 0.13 ng/ml) compared with the control group (4.6 ± 0.7 pkg/ml and 0.22 ± 0.08 ng/ml, respectively). After 1 month after the start of treatment, a significant decrease in these parameters was observed in all patients and in both eyes: on average, the content of sIL-6R by 80.5% and the NE content by 58.7%.

Conclusion. PABA 0.007% in the dosage form of eye drops Aktipol-M has an anti-inflammatory effect, suppressing the production of sIL-6R and NE in the LF in DED in patients with diabetes.

Key words: para-aminobenzoic acid, dry eye disease, diabetes mellitus, inflammation, neutrophilic elastase, soluble interleukin-6 receptor. ■

Point of View. East – West. 2021;2:19–23.

Синдром сухого глаза (ССГ) является одной из самых распространенных патологий передней поверхности глазного яблока. У больных сахарным диабетом (СД) он встречается в 15-54% случаев [1, 2]. Согласно принятому определению (DEWSII 2017 г.), ССГ представляет собой многофакторное заболевание глазной поверхности, характеризующееся нарушением гомеостаза слезной пленки и сопровождающееся офтальмологическими симптомами, в развитии которых этиологическую роль играют нарушение стабильности, гиперосмолярность слезной пленки, воспаление и повреждение глазной поверхности, а также нейросенсорные изменения [21].

Для оценки воспаления как одного из ведущих патогенетических звеньев ССГ [3], развивающегося по принципу «воспалительного порочного круга» [22], используют разнообразные лабораторные маркеры: белки острой фазы, цитокины, молекулы клеточной адгезии, протеолитические ферменты и др. Среди них интерлейкин-6 (IL-6) относится к ключевым провоспалительным цитокинам. Он синтезируется многими типами клеток, в том числе и кератоцитами, участвующими в инициации и регуляции воспаления. Его высокоаффинный рецепторный комплекс состоит из 2 субъединиц, одна из которых (IL-6R, или gp80) специфична только для этого цитокина, а другая (gp130) – для всех цитокинов, принадлежащих к семейству IL-6.

В отличие от многих других интерлейкинов, данный цитокин может активировать клетки-мишени 2 путями. Классический заключается во взаимодействии IL-6 с мембранным комплексом gp80/gp130. При альтернативном пути IL-6 сначала взаимодействует с растворимой формой gp80 (sIL-6R), которая образуется посредством альтернативного сплайсинга мРНК или сливается с клеточной мембраной под воздействием металлопротеаз, а затем комплекс IL-6/sIL-6R связывается с gp130. Этот феномен называют трансигналингом. Трансигналинг IL-6, активируя клетки-мишени (в том числе кератоциты), иницирует и регулирует воспалитель-

ную реакцию. Следует подчеркнуть, что обычно при связывании цитокина с растворимым лигандом запускается механизм отрицательной обратной связи, т.к. растворимая форма рецептора конкурирует с его мембранной формой за связывание с цитокином. Однако в случае с IL-6 такого не происходит: его растворимая форма выступает в качестве агониста.

В офтальмологии исследовалась роль IL-6 при диабетической ретинопатии, увеитах, катаракте, глаукоме. Содержание IL-6 увеличивается в слезной жидкости (СЖ) и в роговице после травм, возникших после ношения контактных линз и других механических воздействий, ультрафиолетовом облучении, при кератоконусе, вирусных конъюнктивитах, герпетических кератитах, при ССГ и др. [4, 5]. Растворимая форма IL-6R (sIL-6R) при глазных болезнях изучена гораздо меньше. При синдроме Шегрена содержание sIL-6R в слезе пациентов достоверно выше, чем у здоровых лиц. При увеитах во влаге передней камеры обнаружено повышение уровня и IL-6 и sIL-6R. О выраженной корреляции между содержанием sIL-6R в слезе и степенью тяжести сезонного аллергического кератоконъюнктивита сообщают J.Shoji et al. [5]. В слезе пациентов с ССГ выявлено достоверное повышение содержания IL-6 и sIL-6R, а также ряда других цитокинов, их растворимых рецепторов и хемокинов. При этом отмечалась существенная корреляция между данными показателями и степенью тяжести заболевания [6].

Нейтрофильная эластаза (НЭ) – это основная сериновая протеаза у человека, которая содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов. Высвобождаясь при воспалении в результате гибели или активации нейтрофилов, этот фермент может вызывать серьезное повреждение окружающих тканей [7]. При воспалении или травме, когда проницаемость сосудистой стенки нарушается, количество лейкоцитов во влаге передней камеры и СЖ существенно увеличивается, соответственно многократно возрастает и содержание эластазы [8, 9]. Кроме того, она может высвобождаться из клеточных элементов роговицы и конъюнктивы [10, 11].

Содержание эластазы в СЖ увеличивается при таких патологиях глаза как травмы, увеиты, ССГ, в том числе у больных СД с ССГ [12, 13]. При ССГ из-за недостаточной активности нуклеаз в прекорнеальной слезной пленке накапливаются экстрацеллюлярные ДНК-ловушки (прежде всего, нейтрофильные), основным компонентом которых, как известно, является эластаза [14]. Это способствует развитию воспаления в конъюнктиве и роговице. Другим фактором, способствующим накоплению экстрацеллюлярных ДНК-ловушек при ССГ, является гиперосмолярный стресс [15].

Парааминобензойная кислота (ПАБК) в форме лекарственного препарата актипол-М (0,007%-й раствор ПАБК) подавляет продукцию провоспалительного цитокина ИЛ-6 в глазных тканях [4], является индуктором эндогенного интерферона [16], антиоксидантом [17], обладает радиопротекторным [18], репаративным действием [19], предотвращает развитие гипоксии и индуцированного апоптоза в тканях глазной поверхности [20]. В клинической практике применяется для лечения вирусных заболеваний глаз и при кератопатиях различного генеза.

ЦЕЛЬ

Изучение влияния 0,007%-го раствора парааминобензойной кислоты на уровни растворимого рецептора к интерлейкину 6 (sIL-6R) и нейтрофильной эластазы в слезной жидкости больных с синдромом сухого глаза, ассоциированным с сахарным диабетом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 30 больных СД с ССГ (60 глаз). Из них 3 мужчин и 27 женщин в возрасте от 45 до 65 лет. В группе пациентов исследование проводили до и после курса лечения препаратом 0,007%-м ПАБК, который назначали в виде инстилляций по 1 капле 3 раз в день в течение 30 дней. В качестве контроля были использованы результаты исследования СЖ 10 практически здоровых

лиц (20 глаз), из которых 2 мужчин и 8 женщин в возрасте от 45 до 65 лет.

Анализировалась рефлекторная слеза каждого глаза. Полученную СЖ центрифугировали в течение 10 мин. при 2000 оборотах в минуту, разделяли на аликвоты и хранили в полипропиленовых микропробирках при температуре минус 20°C. Перед исследованием образцы размораживали при комнатной температуре и проводили количественное определение содержания sIL-6R и НЭ методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе PC Lab (Adaltis, Италия) в соответствии с инструкцией производителя. Использовались тест-системы производства «eBioscience» (Австрия) и «Nucult Biotech» (Нидерланды).

Оценку уровня sIL-6R провели у 20 больных (40 глаз), НЭ – у 10 пациентов (20 глаз).

Статистическую обработку данных проводили методами дисперсионного (тест ANOVA с F-критерием Фишера), вариационного (критерий Стьюдента-Бонферрони) анализа и определения непараметрических ранговых критериев (U-Mann-Whitney, Z-Wilcoxon). Для статистической оценки различий в сравниваемых группах предварительно сравнивались средние показатели и их дисперсии (по Фишеру), а также средние структурные показатели: Me – медиана; Q1 – 1-й квартиль; Q3 – 3-й квартиль по Стюденту-Бонферрони. Далее для уточнения статистической значимости различий использованы непараметрические ранговые критерии – в независимых (U-Mann-Whitney) и зависимых (Z-Wilcoxon) выборках. В таблице указаны средние и средне-структурные показатели рядов и результаты статистического анализа непараметрических критериев.

В качестве критического порога принятия «нулевой гипотезы» в каждом статистическом анализе использовали уровень значимости $p < 0,050$. Все вычисления проводились на электронной таблице EXCEL-2013 и SPSS-20.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех пациентов до лечения в СЖ было зарегистрировано значи-

мое повышение содержания sIL-6R (10974,8±1228,5 пкг/мл) по сравнению с контрольной группой практически здоровых добровольцев (4,6±0,7 пкг/мл; $p < 0,001$). К моменту окончания 30-дневного курса лечения у больных отмечено значительное снижение содержания sIL-6R (2138,0±506,6 пкг/мл, $p < 0,001$) по сравнению с исходным значением. При этом, несмотря на снижение показателя, содержание sIL-6R, как правило, оставалось выше, чем в контрольной группе (табл.).

В среднем после лечения содержание sIL-6R в СЖ уменьшилось на 80,5% ($p < 0,001$) по сравнению с исходным уровнем. При этом достоверное снижение показателя наблюдалось у всех 20 пациентов (40 глаз) ($p < 0,001$), причем в 11 (27,5%) глазах – до нормы. В остальных 29 (72,5%) глазах наблюдалось снижение содержания sIL-6R от 37 до 98% от исходного уровня.

Таким образом, в результате лечения больных 0,007%-м раствором ПАБК в течение одного месяца было выявлено значительное снижение содержания sIL-6R ($p < 0,001$).

Аналогичная тенденция при терапии актипол-М наблюдалась в отношении содержания НЭ. До лечения ее уровень в СЖ обследуемых пациентов был достоверно выше по сравнению с контрольной группой (3,85±0,13 нг/мл и 0,22±0,08 нг/мл соответственно, $p < 0,001$). После лечения отмечено достоверное снижение содержания НЭ до 2,26±0,29 нг/мл (или на 59,0%) по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,001$) (табл.). Это наблюдалось у всех пациентов, причем в обоих глазах. При этом индивидуальный разброс составил от 10 до 88% в сравнении с исходными данными до лечения. Следует отметить, что в 40% случаев после лечения содержание НЭ было сравнимо с контрольным уровнем, а в 60% случаев оставалось выше него.

Хорошо известно, что в очаге воспаления увеличивается содержание многих гуморальных факторов, и их уровень достаточно четко характеризует течение локальной воспалительной реакции. В связи с этим, использование в качестве объекта исследования локальных биологических жидкостей представляется весьма перспективным с точки зре-

ния информативности. Вышеизложенные результаты показали, что у больных СД с ССГ увеличивается содержание в СЖ таких воспалительных маркеров, как sIL-6R и НЭ, что согласуется с литературными данными [5, 12, 13].

Применение 0,007%-го раствора ПАБК в форме лекарственного препарата актипол-М глазные капли в течение одного месяца значительно снижает содержание данных лабораторных маркеров, что свидетельствует о стихании воспалительного процесса. Однако нормализация показателей произошла только в 27,5% наблюдений в случае с sIL-6R и в 40% наблюдений – в случае с НЭ. На этом основании рекомендуется продолжить лечение больных препаратом актипол-М более одного месяца до нормализации всех объективных и субъективных клинических и лабораторных показателей.

Таким образом, изучение локальной продукции цитокинов и других лабораторных маркеров при различной патологии органа зрения расширяет наши представления об особенностях патогенеза этих заболеваний, а также позволяет применить патогенетически ориентированную терапию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Парааминобензойная кислота 0,007%-я в лекарственной форме капли глазные актипол-М оказывает противовоспалительное действие, подавляя повышенную продукцию растворимой формы IL-6R (sIL-6R) и нейтрофильной эластазы в слезной жидкости при синдроме сухого глаза у больных с сахарным диабетом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Manaviat M.R., Rashidi M., Afkhami-Ardekani M., Shoja M.R. Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. BMC Ophthalmology. 2008; 8: 10.
2. Ma A., Mak M.S., Shih K.C. et al. Association of long-term glycaemic control on tear break-up times and dry eye symptoms in Chinese patients with type 2 diabetes Clin. Exp. Ophthalmol. 2018; 46(6): 608-615.
3. Nicolle P., Liang H., Reboussin E. et al. Proinflammatory markers, chemokines an

Таблица

Влияние лекарственного препарата Актипол-М на содержание нейтрофильной эластазы и растворимой формы IL-6R (sIL-6R) в слезной жидкости

Группы наблюдения		Контроль	До лечения	Достоверность различий рU	После лечения	Достоверность различий рU	Достоверность различий рW
Показатели							
Нейтрофильная эластаза (нг/мл)	n	20	20	< 0,001	20	<0,001	<0,001
	M	0,22	3,85		2,26		
	±m	0,08	0,13		0,29		
	Me	0,15	3,90		2,90		
	Q1	0,00	3,35		0,70		
	Q3	0,30	4,20		3,65		
	Min	0,00	2,30		0,40		
	Max	0,70	4,80		3,80		
sIL-6R (пкг/мл)	n	20	40	<0,001	40	0,028	<0,001
	M	4,6	10974,8		2138,0		
	±m	0,7	1228,5		506,6		
	Me	4,5	8810,0		892,0		
	Q1	3,0	6065,0		0,0		
	Q3	6,0	11899,0		2725,0		
	Min	2,0	1980,0		0,0		
	Max	9,0	30425,0		13875,0		

Примечание: 1. Условные обозначения: n – количество наблюдений (количество глаз), M – среднее арифметическое, m – ошибка средней арифметической, Me – медиана, Q1 – 1-й квартиль, Q3 – 3-й квартиль, Min – минимальное значение показателя выборки, Max – максимальное значение показателя выборки.
2. Статистическая значимость различий между сравниваемыми группами:
рU – контрольной группы и основной группы до и после лечения по U – критерию Mann-Whitney;
рW – между показателями до и после лечения по W-критерию Wilcoxon.

enkefalin in patients suffering from dry eye disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(4): 1221. DOI: 10.3390/ijms 19041221

4. Акберова С.И., Тазулахова Э.Б., Мусаев Галбинур П.И., Мамедова В.М. Влияние пара-аминобензойной кислоты (АК-ТИПОЛ®) на продукцию интерлейкина-6 у больных с герпетическими кератитами. *Вестник офтальмологии.* 2006; 5: 23-26.

5. Shoji J., Kawaguchi A., Gotoh A. et al. Concentrations of soluble interleukin-6 receptors in tears of allergic conjunctival disease patients. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 2007; 51(5). 332-337. DOI: 10.1007/s10384-007-0461-2

6. Na K.S., Mok J.W., Kim J.Y. et al. Correlations between tear cytokines, chemokines and soluble receptors and clinical severity of dry eye disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012; 53(9): 5443-5450. DOI:10.1067/iov.11-9417

7. Sakata M., Sack R.A., Sathe S. et al. Polymorphonuclear leukocyte cells and elastase in tears. *Curr. Eye Res.* 1997; 16(8):810-819. DOI:10/1076/ceyr.16.8810.8992

8. Волков О.А., Нешкова Г.А., Мошетова Л.К., Яровая Г.А. Влияние карнозина на воспалительные процессы при контузии глазного яблока. *Биомедицинская химия.* 2006; 52. (2):188-191.

9. Хутова Ф.Т., Яровая Г.А., Кочергин С.А., Нешкова Е.А. Эластазоподобная и антириптическая активность слезы пациентов с хроническими рецидивирующими увеитами при комплексном лечении с применением биоматериала Аллоплант. *Российская педиатрическая офтальмология.* 2008; 2:26-30.

10. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Биохимия слезы и ее изменение при патологии. *Вопросы медицинской химии.* 1990; 3: С. 13-19.

11. Доценко В.Л., Нахикян Р.И., Соловьева Н.И. и др. Протеолитические ферменты слезной жидкости как факторы патогенеза хронических язв роговой обо-

лочки глаза // Вопросы медицинской химии. – 1990. – № 3. – С.73-76

12. Timothy D. Blalock; Sandra J. et al. Gipson of Membrane-Associated Mucins from Ocular Surface Epithelia. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2008;49: 1864-1871.

13. Bing Li 1, Minjie Sheng, Liqi Xie et al. Tear Proteomic Analysis of Patients With Type 2 Diabetes and Dry Eye Syndrome by Two-Dimensional Nano-Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2014; 55(1): 177-86.

14. Sonawane S., Khanolkar V., Namavari A. et al. Ocular Surface Extracellular DNA and Nuclease Activity Imbalance: A new paradigm for inflammation in dry eye disease. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012; 53(13): 8253-8263. DOI:10.1167/iovs.12-10430.

15. Tiberwal S., Ivanir Y., Sarkar J. Hyperosmolar stress induces neutrophil extracellular trap formation: implication for dry eye disease. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2014; 55(12): 7961-7969. DOI: 10.1167/iovs.14-15332

16. Мусаев-Галбинур П.И., Акберова С.И, Гусева Т.С. и др. Влияние актипола на уровень интерферона в слезной жидкости (клинико-лабораторные исследования) Вестник офтальмологии. 2001; 6: 33-35

17. Магомедов Н.М., Мусаев Галбинур П.И., Акберова С.И. и др. Парааминобензойная кислота – биоантиоксидант. Онтогенез. 2000; 31(4): 264-265.

18. Строева О.Г., Панова И.Г. Регуляция митотической активности в роговице крыс при защитном и лечебном действии парааминобензойной кислоты в опытах с рентгеновским облучением. Изв. РАН, Серия биол. 1999; 5: 613-616.

19. Сологуб А.А., Панова И.Г., Строева О.Г. Влияние парааминобензойной кислоты на уровень пролиферативной активности в регенерирующей роговице взрослых крыс. Онтогенез. 1994; 25(6): 54-59.

20. Маркитантова Ю.В., Акберова С.И., Рябцева А.А., Строева О.Г. Влияние парааминобензойной кислоты на процессы апоптоза в конъюнктиве и эпителии роговицы взрослых крыс in vivo, после действия гипобарической гипоксии. Известия РАН. Серия биол. 2018; 3: 257–266.

21. Messmer E.M. The pathophysiology, diagnosis and treatment of dry eye disease. Dtsch Arztebl.Int. 2015; 112(5): 71-81. DOI:10.3238/arztebl.2015.007

22. Baudouin Ch., Aragona P., Setten G. et al. Diagnosing the severity of dry eye: a clear and practical algorithm. Br. J. Ophthalmol. 2014; 98(9): 1168–1176.



УФИМСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЛАЗНЫХ БОЛЕЗНЕЙ



Устройство для ионофореза роговицы «ИОН»

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2019/8901

Устройство предназначено для трансэпителиального насыщения стромы роговицы рибофлавином или его аналогами посредством ионофореза перед процедурой УФ кросслинкинга роговичного коллагена

Принцип работы основан на физическом процессе миграции заряженных ионов под действием постоянного тока малой величины